

自己評価報告書

平成23年5月16日現在

機関番号：21401

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2008～2011年度

課題番号：20248002

研究課題名（和文） 産業用素材としてのデンプンを合成する育種素材の作出

研究課題名（英文） Preparation of plant resources having a variety of starch used as industrial materials

研究代表者 中村 保典（NAKAMURA YASUNORI）

公立大学法人秋田県立大学・生物資源科学部・教授

研究者番号：30013767

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：デンプン、イネ育種、植物バイオテック、代謝工学、イネ変異体、イネ組換え体、酵素、遺伝子

1. 研究計画の概要

本研究では、イネをモデル植物として、種子デンプンの構造をバイオテクノロジーによって改変する技術を確立し、デンプンを新産業用素材として使用する基盤を築く。この成果を踏まえ、新規デンプンを生産するイネ品種の育成をめざし、コメ需要の飛躍的な拡大に資する。産業利用を意識したバイオ技術によるコメデンプンの開発につながる基本技術を確立し、育種素材を作出する。

(1) イネデンプン形質転換体および変異体ライブラリーを作製した上で、アミロペクチンの分子構造やデンプン構造および物性をバイオテクノロジーによってどの程度まで改変し得るのか、その可能性の限界と範囲を見極める。

(2) こうして作成したテーラーメイド・デンプンがどのような物性を有するかを解析し、将来どのような産業分野で利用可能かを調査・試行する。

(3) デンプン合成代謝にはまだ未解析で機能が不明な酵素（ホスホリラーゼ、DPE 酵素など）がある。これらの遺伝子の機能を解明する。また、複数の酵素間の相互作用を解析する実験系を確立した上で明らかにする。

(4) 研究実施期間中に、国際シンポジウムを開催し、成果を世界にアピールするとともに、世界のリーダーと意見交換し、共同研究の可能性を討議する。

2. 研究の進捗状況

(1) イネ形質転換体および変異体ライブラリーの作製

①RNAi 法によって、3種類の BE 遺伝子（BEI, BEIIa, BEIIb）について、単独およ

び複数の遺伝子発現を同時に制御したイネ形質転換体を作製した。次いで、ISA1 と ISA2 の発現を抑制した形質転換体を RNAi 法で作製した。また、ISA2 遺伝子を高発現させたイネ形質転換体を作製した。

②イネ種子の登熟初期に種子のシンク機能の発現を制御し、デンプン合成への影響を調べるために、植物ホルモンのサイトカイニンレベルが変動する形質転換体を作製した。

③MNU 受精卵処理後代より選抜したイネ胚乳変異系統について、固定化を進め、同質遺伝子系統形成を進めた。

(2) イネ形質転換体および変異体ライブラリーのデンプンの構造解析および物性解析

①形質転換体や変異体のアミロペクチンの分子構造、熱糊化特性を分析し、データベースを作成中である。

③各種デンプンのレオロジー分析法を行い、データ収集した。またグルカンの分子量測定を行った。

(3) 酵素機能および酵素間相互作用の解析

イネデンプン合成のキー酵素である BE や ISA、DPE の各アイソザイムの機能と相互関係が明らかになった。また、イネの BE、Pho アイソザイム間の反応特性をリコンビナント酵素標品を用いて解析し、両者が強くかつ互いの機能を活性化することによってグルカン合成を行うとの特筆すべき成果を得た。特に、酵素間の相互作用は相乗的であることを初めて明確にした点は、デンプン代謝制御研究の新分野を開拓することにつながる成果と考える。

(4) 新デンプンの産業利用の可能性調査

①イネ変異体デンプンの産業利用するため

にカギとなる諸性質を調べた。

②変異体デンプンの食品への応用を検討するために、デンプン物性と食品の機能性(難消化性)や加工性の関連を調べた結果、興味あるデータを得た。

(5) 国際シンポジウムの開催

これまでの成果を問うために、平成22年に、本分野の世界的な研究者を招待して秋田で国際シンポジウムを開催した。国内外で現在最も活発に研究成果を公表している研究者が参加し、活発な討議が行われ、新たな共同研究が提案された。(平成23年度に、プロシーディングスを発刊する計画である。)

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

(1) デンプン合成過程を解析し、新規デンプンを産業利用する研究を実施するに十分なイネ形質転換体変異体や変異体を作製することができた。これらは育種素材としてあるいはその指標として十分利用できる。

(2) デンプン合成過程や酵素機能を解析し、新たに興味ある事実が見出された。第一に、デンプン合成には初期過程が重要で、これまで研究されてきた増幅過程とは区別されるものであることを明確にした。第二に、酵素のインビトロ解析が大きく進展し、PhoとBEなど、酵素間相互作用は相乗的であるとの画期的な成果を得た。

(3) 酵素、遺伝子、デンプン構造、物性、品質間の相関関係を示すデータベースができてきた。

(4) 平成22年に、本分野の世界的な権威を招待して秋田で国際シンポジウムを開催した。有益な情報交換が行われ、新たな共同研究が提案された。

4. 今後の研究の推進方策

イネ種子のデンプン合成過程の解明とデンプンの産業利用を本格的に推進するためには、育種素材を整備することが重要であるとの当初の認識は正しかったと、本研究実施過程ですます強く感じている。今後もこの方向性を保持した状態で、今後も研究の深化を図りたい。

一方で、デンプン合成制御メカニズムは当初想定した以上に精緻で複層的であることもわかった。種子のデンプン合成初期過程を解析することが重要で、その準備を行う。また、酵素間相互作用は相乗的であることもわかってきた。これらの新局面の解明は、今後の本分野の研究の進展には欠かせないため、残された期間内で、ポイントを絞って重点的に研究を行う。

5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計23件)

(1) Nakamura Y. 他6名中1番目 Characterization of the reactions of starch branching enzymes from rice endosperm. *Plant Cell Physiology*, 51, (2010) 776-794. 査読有

(2) Nakamura Y. 他4名中5番目 Starch biosynthesis in cereal endosperm. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, (2010) 383-392. 査読有

(3) Wabiko H. 他4名中5番目 Analysis of core genes supports the reclassification of strains *Agrobacterium radiobacter* K84 and *Agrobacterium tumefaciens* AKE10 into the species *Rhizobium rhizogenes*. *Systematic and Applied Microbiology*, 33, (2010) 247-251. 査読有

(4) 堀 光代、長野宏子、阿久澤さゆり、下山田 真、吉田一昭、岐阜県産小麦粉の製パン性の検討—製粉法による粒度の面から—、*日本調理科学会誌*、43, (2010) 31-37. 査読有

(5) Satoh H., H. Matsusaka and T. Kumamaru. Use of *N*-methyl-*N*-nitrosourea treatment of fertilized egg cells for saturation mutagenesis of rice. *Breeding Science*. 60, (2010) 475-485. 査読有

[学会発表] (計20件)

Nakamura Y. Revealing of complex system of starch synthetic metabolism in higher plants using rice mutants and transformants. *International Symposium on Induced Mutations in Plants*, (2008. 8. 13) Wien, Austria. 国連会議場

[図書] (計1件)

(1) 中村保典、学会出版センター、種子デンプンの生合成 (「種子の科学とバイオテクノロジー」、原田久也監修)、2009年、81-87.

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: 印刷用塗工紙

発明者: 小野裕次ほか、(中村保典)

権利者: 日本製紙株式会社

種類:

番号:

出願年月日: 2009.3.30

国内外の別: 国内